

PARTICLE ANALYZER

TANAKA 10/769,017

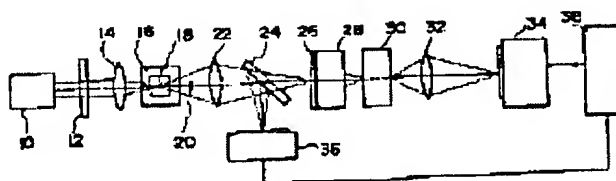
Patent number: JP6043090
Publication date: 1994-02-18
Inventor: OGINO SHINICHI
Applicant: TOA MEDICAL ELECTRONICS CO LTD
Classification:
- international: G01N15/14; G01N21/49; G01N21/64; G01N33/49
- european:
Application number: JP19930089227 19930324
Priority number(s):

Report a data error here

Abstract of JP6043090

PURPOSE: To obtain the spectrum of an optical signal and to obtain the more detailed information of particles by using a prism and a diffraction grating in an apparatus, which emits light on sample liquid flow containing the particle components such as blood and urine, detects, the signal from the particles and analyzes the particles.

CONSTITUTION: The fluorescence from particles undergoes spectroscopy with a prism 28 and a diffraction grating. The light is separated in accordance with wavelengths. The intensity of the obtained fluorescence spectrum is amplified with an image intensifier 30. The intensity in every wavelength is measured with an image sensor 34.



BEST AVAILABLE COPY

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平6-43090

(43) 公開日 平成6年(1994)2月18日

(51) Int. Cl. ⁵	識別記号	F I
G01N 15/14	D 2107-2J	
	C 2107-2J	
21/49	A 7370-2J	
21/64	Z 9115-2J	
33/49	A 7055-2J	

審査請求 未請求 請求項の数12 (全10頁)

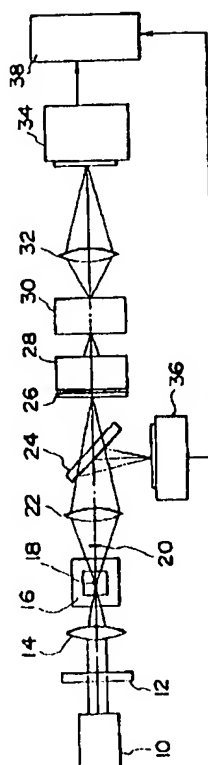
(21) 出願番号	特願平5-89227	(71) 出願人	390014960 東亜医用電子株式会社 兵庫県神戸市中央区港島中町7丁目2番1号
(22) 出願日	平成5年(1993)3月24日	(72) 発明者	荻野 真一 兵庫県神戸市中央区港島中町7丁目2番1号 東亜医用電子株式会社内
(31) 優先権主張番号	特願平4-108828	(74) 代理人	弁理士 塩出 真一
(32) 優先日	平4(1992)4月1日		
(33) 優先権主張国	日本 (J P)		

(54) 【発明の名称】 粒子分析装置

(57) 【要約】

【目的】 血液や尿等の粒子成分を含む試料液流に光を照射して、粒子からの信号を検出し、粒子を分析する装置において、プリズムや回折格子を用いて光信号のスペクトルを得、より詳細な粒子の情報を得る。

【構成】 粒子からの蛍光を、プリズム28や回折格子により分光して波長ごとに分離し、得られた蛍光スペクトルの強度をイメージインテンシファイア30で増幅し、波長ごとにその強度をイメージセンサ34で測定する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 粒子を含む試料液をシース液で包んでフローセル（16）内に流してシースフローを形成し、この試料液流（18）に光を照射して粒子を検出する装置において、

試料液流（18）に蛍光励起光を照射するための光源（10）と、

粒子から発せられた蛍光のうち所定方向に発せられた蛍光を分光し蛍光スペクトルを得る分光手段（28）と、
分光手段（28）で得られた蛍光スペクトルを増幅する増幅手段（30）と、

増幅された蛍光スペクトルの各要素を検出するイメージセンサ（34）と、

粒子が通過するごとにイメージセンサ（34）の信号を読み出すとともにリセットを行う信号処理手段（38）と、を備えたことを特徴とする粒子分析装置。

【請求項2】 さらに、粒子から発せられた散乱光又は粒子を透過した透過光を検出する光検出手段（36）を備えたことを特徴とする請求項1記載の粒子分析装置。

【請求項3】 さらに、粒子に向けて白色パルス光を照射するための第2の光源（40）と、

粒子を透過した白色透過光像を撮像する撮像手段（52）と、を備えたことを特徴とする請求項1又は2記載の粒子分析装置。

【請求項4】 光検出手段（36）が、前方散乱光及び前方蛍光を検出するようにしたことを特徴とする請求項2記載の粒子分析装置。

【請求項5】 光検出手段（36）が、前方散乱光及び後方蛍光を検出するようにしたことを特徴とする請求項2記載の粒子分析装置。

【請求項6】 光検出手段（36）が、側方散乱光及び後方蛍光を検出するようにしたことを特徴とする請求項2記載の粒子分析装置。

【請求項7】 蛍光スペクトル検出系と粒子画像撮像系とを同じ光軸上に配置したことを特徴とする請求項3記載の粒子分析装置。

【請求項8】 蛍光スペクトル検出系と粒子画像撮像系とを直交して配置したことを特徴とする請求項3記載の粒子分析装置。

【請求項9】 第1の光源の照射系と、第2の光源の照射系とを直交させて配置したことを特徴とする請求項3記載の粒子分析装置。

【請求項10】 粒子を含む試料液をシース液で包んでフローセル（16）内に流してシースフローを形成し、この試料液流に光を照射して粒子を検出する装置において、

試料液は一方向に幅が広く他方向に幅の狭い扁平流（64）であり、

試料液扁平流（64）に蛍光励起光を照射するための光源（10）と、

粒子から発せられた蛍光のうち試料液扁平流の幅の広い方から発せられた蛍光を分光し蛍光スペクトルを得る分光手段（28）と、

分光手段（28）で得られた蛍光スペクトルを増幅する増幅手段（30）と、

増幅された蛍光スペクトルの各要素を検出する二次元イメージセンサ（70）と、

粒子が通過するごとに二次元イメージセンサ（70）の信号を読み出すとともにリセットを行う信号処理手段（72）と、を備えたことを特徴とする粒子分析装置。

【請求項11】 さらに、試料液扁平流の幅の広い方へ発せられた、粒子から発せられた散乱光又は粒子を透過した透過光を検出する光検出手段（36）を備えたことを特徴とする請求項10記載の粒子分析装置。

【請求項12】 さらに、粒子に向けて白色パルス光を照射するための第2の光源（40）と、

粒子を透過した白色透過光像を撮像する撮像手段（52）と、を備えたことを特徴とする請求項10又は11記載の粒子分析装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、血液や尿等の粒子成分を含んだ試料液をシースフローにして流し、その試料液流に光を照射して、粒子からの信号を検出し、粒子を分析する粒子分析装置、詳しくは、プリズムや回折格子等の分光手段を用いて光信号のスペクトルを得、より詳細な粒子の情報を得ることができる粒子分析装置に関する。なお、シースフロー（sheath flow）とは、粒子を液流れの中央部に精度良く一列に整列させて通過させるために、粒子の懸濁液の周囲を層流のシース液で被覆した流れをいう。そして、シース液としては、通常、希釈液等が用いられる。

【0002】

【従来の技術】 染色された細胞等の粒子を含む試料液流に蛍光励起光を照射し、その粒子から発せられた蛍光を検出し粒子の分類、計数を行う装置がある。フローサイトメータ（flow cytometer）はその一例である。さらに、粒子像を撮像することができる装置（イメージングフローサイトメータ）もある。このような装置において細胞から発せられる蛍光を測定する場合、目的とする蛍光を他の光から分離するため、光学フィルタやダイクロイックミラー等の波長選択手段が必要である。また、波長の異なる複数の蛍光を測定しようとするれば、それらに対応して複数の光検出器が必要である。

【0003】 また、特開平2-24535号公報には、検体からの蛍光を分光手段で連続した波長成分に分光し、その分光された各波長成分を一次元光電検出器で検出し、被検粒子における波長に対する蛍光強度分布を算出することができるフローサイトメータが開示されている。

る。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】ところが、光学フィルタでは波長が大きく離れた光を分離することは可能であるが、波長が接近している光を分離することは困難である。また、光の波長分布を測定することができない。すなわち、細胞のどの部位からどんな波長の蛍光がどれくらい発せられているかを知ることはできない。もちろん、ビデオカメラで細胞画像を撮像し画像解析すれば可能であろうが、細胞ごとに画像撮像し画像処理しなければならず、装置が複雑になる。

【0005】また、特開平2-24535号公報記載の粒子解析装置では、分光された蛍光は微弱であるため、検出器でそのまま蛍光を検出するのは困難である。蛍光励起用光の照射強度を上げれば蛍光強度を上げることができるが、今度は被検粒子に損傷を与えるという問題が発生する。また、例えばCCD（電荷結合素子）のような電荷蓄積型の光電変換素子を使用する場合、何らかの方法で蓄積された電荷をリセットしなければ、検出領域を通過した粒子全ての蛍光を積算してしまう。粒子間隔は一定間隔ではないので、粒子の通過を検知し、その都度電荷をリセットする必要がある。本発明は、微弱な蛍光であっても粒子ごとに精度よく蛍光スペクトルを測定することができる粒子分析装置を提供することを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】上記の目的を達成するために、本発明においては、プリズムや回折格子等の分光手段により粒子からの蛍光を波長ごとに分離し、分光手段で得られた蛍光スペクトルの強度を増幅手段、例えばイメージンシファイアで増幅し、波長ごとにその強度をイメージセンサで測定するようにしたことを特徴としている。本発明の粒子分析装置は、図1及び図3に示すように、粒子を含む試料液をシース液で包んでフローセル16内に流してシースフローを形成し、この試料液流18に光を照射して粒子を検出する装置において、試料液流18に蛍光励起光を照射するための光源10と、粒子から発せられた蛍光のうち所定方向に発せられた蛍光を分光し蛍光スペクトルを得る分光手段28と、分光手段28で得られた蛍光スペクトルを増幅する増幅手段30と、増幅された蛍光スペクトルの各要素を検出するイメージセンサ34と、粒子が通過するごとにイメージセンサ34の信号を読み出すとともにリセットを行う信号処理手段38と、を備えたことを特徴としている。

【0007】上記の粒子分析装置において、図4及び図5に示すように、さらに、粒子から発せられた散乱光又は粒子を透過した透過光を検出する光検出手段36を設ける場合がある。また、図6、図8及び図9に示すように、さらに、粒子に向けて白色パルス光を照射するため

の第2の光源40と、粒子を透過した白色透過光像を撮像する撮像手段52とを設ける場合がある。

【0008】また、図1に示すように、光検出手段36が、前方散乱光及び前方蛍光を検出するように構成したり、図4に示すように、光検出手段36が、前方散乱光及び後方蛍光を検出するように構成したり、図5に示すように、光検出手段36が、側方散乱光及び後方蛍光を検出するように構成する場合がある。さらに、図6に示すように、蛍光スペクトル検出系と粒子画像撮像系とを同じ光軸上に配置したり、図9に示すように、蛍光スペクトル検出系と粒子画像撮像系とを直交して配置したり、図8に示すように、第1の光源の照射系と、第2の光源の照射系とを直交させて配置したりする場合がある。

【0009】また、本発明の他の粒子分析装置は、図10に示すように、粒子を含む試料液をシース液で包んでフローセル16内に流してシースフローを形成し、この試料液流に光を照射して粒子を検出する装置において、試料液は一方方向に幅が広く他方向に幅の狭い扁平流64であり、試料液扁平流64に蛍光励起光を照射するための光源10と、粒子から発せられた蛍光のうち試料液扁平流の幅の広い方から発せられた蛍光を分光し蛍光スペクトルを得る分光手段28と、分光手段28で得られた蛍光スペクトルを増幅する増幅手段30と、増幅された蛍光スペクトルの各要素を検出する二次元イメージセンサ70と、粒子が通過するごとに二次元イメージセンサ70の信号を読み出すとともにリセットを行う信号処理手段72と、を備えたことを特徴としている。

【0010】上記の図10に示す装置において、さらに、試料液扁平流の幅の広い方へ発せられた、粒子から発せられた散乱光又は粒子を透過した透過光を検出する光検出手段36を設ける場合がある。また、図10に示す装置において、図12に示すように、さらに、粒子に向けて白色パルス光を照射するための第2の光源40と、粒子を透過した白色透過光像を撮像する撮像手段52と、を設ける場合がある。

【0011】

【作用】蛍光励起光の照射により粒子から発せられた蛍光は、分光手段28により分光され蛍光スペクトル像が得られる。この蛍光スペクトルは増幅手段、例えばイメージンシファイア30により増幅され、イメージセンサ34又は70により波長ごとに強度が測定される。イメージセンサとして二次元イメージセンサを複数ライン備えている場合には、複数の粒子に対して同時にそれぞれ粒子の蛍光スペクトルを測定することができる。一方、粒子を透過した蛍光励起光及び粒子で散乱した散乱光は光検出手段36で検出され、信号処理装置38で粒子の通過が判定される。粒子の通過が完了すれば、イメージセンサの信号を読み出すとともにイメージセンサのリセットを行う。

【0012】

【実施例】以下、図面を参照して本発明の好適な実施例を詳細に説明する。ただし、この実施例に記載されている構成機器の寸法、材質、形状、その相対配置などは、とくに特定の記載がない限りは、本発明の範囲をそれらのみに限定する趣旨のものではなく、単なる説明例にすぎない。

実施例1

図1は、実施例1における粒子分析装置の構成を示している。光源10は、蛍光励起光源でありAr、He-Cdもしくは半導体レーザのようなレーザ光源、又は連続発光タイプのXeランプのような光源である。光源としてXeランプのような連続スペクトルを有した光源を使用する場合、波長選択フィルタ12を使用することによって任意の励起波長を選択することができる。レーザを光源として使用する場合、フィルタ12は不要である。集光レンズ14は、蛍光励起用光源10からの光をフローセル16の中心を流れる試料液流18に集光するためのものであり、集光時のスポットサイズは $10 \times 200 \mu\text{m}$ 程度であることが望ましい。フローセル16は、シースフロー測定法によって細胞を1つ1つ整列させながら検出領域を通過させるためのものであり、集光レンズ14で絞られた励起光束の焦点位置に配置されている。フローセル16は、ガラス、プラスチック等の透明体からなり、次第に狭められた導入用流路と、この導入用流路に連なる狭い測定用流路と、導入用流路に設けられたシース液供給口と、測定用流路の下流に設けられた排出口とを備えている。

【0013】被検粒子が蛍光励起光の照射領域を通過すると、散乱光（前方散乱光）及び蛍光（前方蛍光）が得られる。これらの光は受光レンズ22で集められる。20は光源10からの直接光を遮蔽するための遮光板である。散乱光はダイクロイックミラー24で反射され、光検出手段、例えばCCDラインセンサ36に入射する。ラインセンサ36からの信号は信号処理装置38に入力され、粒子が通過したことが検知される。さらに、通過した粒子の大きさや数も検知される。粒子の検知を透過光で行う場合には、遮光板を取り除く必要がある。一方、蛍光はダイクロイックミラー24を透過し、スリット26を通過して分光手段28に入射する。図2はダイクロイックミラー24の特性図を示す。

【0014】分光手段28は、細胞から発した蛍光をスペクトルに変換するためのものであり、例えばポリクロメータ、プリズム、グレーティング等を使用することによって、図3に示すような蛍光スペクトル像が増幅手段、例えばイメージインテンシファイア30の入射面に得られる。58は粒子である。イメージインテンシファイア30は光電子増倍素子であり、分光手段28で分光された蛍光スペクトル像を増幅するためのものである。イメージインテンシファイア30の入射面（光電面）に

入射した蛍光スペクトル像は、増幅されてイメージインテンシファイア30の出力面（蛍光面）に出力される。さらに、イメージインテンシファイア30に出力された蛍光スペクトル像は、リレーレンズ32もしくは光ファイバで受光素子（イメージセンサ）34に結像される。受光素子（イメージセンサ）34として、CCDラインセンサ又はフォトダイオードアレイを使用することによって、各々の波長毎の蛍光強度を測定する。例えば、1画素が $13 \mu\text{m} \cdot 256$ 画素のCCDラインセンサを使用し、波長領域400から656nmまでを測定する場合、分光手段28の焦点距離を適当に設定することによって、1画素当たり1nmの分解能で蛍光強度を測定することができる。

【0015】受光素子（イメージセンサ）34としてCCDラインセンサを使用する場合、フォトダイオードアレイとは異なり電荷蓄積型センサであるため、何らかの方法で、蓄積された電荷をリセットする必要がある（リセットしなければ通過した粒子全てからの蛍光強度が積算されてしまう）。そこで、光検出器であるラインセンサ36からの信号を利用して、粒子の通過が完了するごとに蓄積された電荷を読み出すとともに、電荷のリセットを行う。また、ラインセンサ36からの信号を処理することにより、測定対象とする粒子であるか否かの判定をし、対象外粒子の場合は、CCDラインセンサ34から蛍光スペクトル信号を、信号処理装置38に送る前にリセットしてしまうことにより、必要なデータのみを取り込むようにすることもできる。得られた信号は、信号処理装置38で処理されて、通過した粒子ごとの分光データを取得することができる。

【0016】本発明の装置においては、受光素子34における励起光と蛍光とは波長が異なるため、各信号の得られる画素の位置も異なる。このため励起光を除去するフィルタを使用する必要がない。また、フローセル16内の検出領域を限定するために円形又は矩形スリット26を設置する必要がある。スリット26の大きさは受光レンズ22の結像倍率によって決定されるため、例えばフローセル内での検出領域を $\phi 20 \mu\text{m}$ 、受光レンズ22の結像倍率が10倍の場合、スリット26の大きさは $\phi 0.2 \text{ mm}$ とすればよい。以上のようにして、1つの検出系を使用して2種類以上の波長の蛍光を取得することを目的としたフローサイトメータ装置が可能となる。

【0017】実施例2

図1の装置は光源10からの光（蛍光励起光）による前方散乱光及び前方蛍光を検出対象とするものであるが、他の例も各種実施可能である。例えば、図4は、実施例2における粒子分析装置の構成を示している。図4の装置は、図1の装置とは光源10による照射系（蛍光励起光の照射系）及び光検出手段36による散乱光検出系の配置の点で異なり、図4の装置は前方散乱光及び後方蛍光を検出対象とするものである。照射系の配置とミラー

24とにより、蛍光検出系に光源10からの励起光が直接入射しないため、高精度の蛍光測定が可能となる。

【0018】実施例3

図5は、実施例3における粒子分析装置の構成を示している。図5の装置は、図4の装置とはさらに光検出手段36による散乱光検出系の配置の点で異なり、図5の装置は側方散乱光及び後方蛍光を検出対象とするものである。なお、側方散乱光を検出するため、遮光板20は不要である。この場合も上記図4の装置と同様の効果が得られる。また、側方散乱光を検出するため粒子の内部構造の差を反映した信号が得られる。

【0019】実施例4

図6は、実施例4における粒子分析装置の構成を示している。本実施例は、実施例1で得られた信号を利用し、特定の波長の蛍光を発する細胞の白色光画像を撮像する装置の構成を示している。光源として蛍光励起光源10に加えて、可視光領域に広い波長領域を有するパルス発光タイプの光源（例えばXeフラッシュランプ）を細胞撮像用光源40として使用する。光源40からの照射光は、コリメータレンズ42で平行光にされてハーフミラー46に入射する。ハーフミラー46は、励起光源10と撮像用光源40の照射領域を合致させるために使用するものであり、透過光と反射光の比率は蛍光受光系・細胞撮像系で必要とされる光量によって任意に決定できるが、蛍光強度を高くするために透過率90%、反射率10%とすることによって、励起光源10からの光の透過性を高くすることが望ましい。また、ハーフミラー48は細胞から得られる蛍光を透過し細胞撮像光を反射するためのものであり、その反射光と透過光の比率はハーフミラー46同様、各々の系で必要とされる光量に合わせて決定できる。電子シャッター50は、細胞撮像用光源40が発光する際に、イメージインテンシファイア30に過大な光が入射しないようにするためのものである。この電子シャッターを使用する代わりに、ゲート機能を有するイメージインテンシファイアを使用しても良い。

【0020】撮像手段、例えばCCDカメラ52は細胞の白色光画像を撮像するためのものである。但し、CCDカメラの撮像領域と励起光の照射領域が重なっていると、励起光が常時CCDカメラ52に入射してことになるため、CCD素子が輝度飽和してしまうため、図7に示すように、励起用光源10の照射領域56とCCDカメラ52の撮像領域57をずらしておく必要がある。58は粒子である。また、励起光源10として可視領域外もしくは可視領域の端の波長の光を発するHe-Cdレーザのような光源を使用すれば、細胞像のカラー撮像に影響は与えない。信号処理装置54は、受光素子（イメージセンサ）34からの信号を処理し、撮像領域を通過中の細胞が測定対象とする細胞であるかどうかを判断して、対象細胞であると判断された場合に、白色光像撮像

用光源40を発光させるためのトリガーパルスが発生するとともに、得られた信号の解析をするためのものである。

【0021】以下、測定手順に従って説明する。蛍光励起用光源10は、常時フローセル16の粒子通過領域を照射し、細胞の通過を監視している。蛍光染料で染色された細胞が通過すると、細胞から発した蛍光と透過した励起光は、受光レンズ22で集光された後、ハーフミラー48を通過してダイクロイックミラー24で励起光成分が除去され、円形のスリット26を通過して分光手段28に入射する。分光手段28に入射した蛍光はスペクトルに分けられた後、電子シャッター50を通過して図3に示すようなスペクトル像がイメージインテンシファイア30に結像される。このスペクトル像はイメージインテンシファイア30で増幅されてイメージインテンシファイア30の蛍光面に出力される。イメージインテンシファイア30の蛍光面に出力されたスペクトル像は、リレーレンズ32で受光素子34に結像する。この際、リレーレンズ32の代わりに光ファイバーを用いて受光素子34に結像させることも可能である。なお、電子シャッター50を分光手段28の後段に配置しても、同等の効果が得られる。さらに、電子シャッター50を使用せずとも、ゲート機能付のイメージインテンシファイアを使用することにより、同じ効果が得られる。

【0022】その後、検出された信号を信号処理装置54で解析する。粒子をFITC (fluorescein isothiocyanate) とフィコエリトリン (Phycocerythrin) で2重染色した場合、測定対象とする粒子はFITC又はPhycocerythrinもしくはその両方で染色されていることになるので、粒子から発せられる蛍光波長は530nm又は570nmもしくは両方の波長のいずれかである。そこで、530nmと570nmの蛍光強度のどちらか一方がある一定の値以上の場合、もしくは両方がある一定の値以上の場合に白色光像撮像用光源40を発光させる。さらに、撮像された粒子像を蛍光波長毎に（530nm、570nm、両方の3種に）分類してメモリしておく。又は、あらかじめ設定された蛍光の波長パターンと比較して、波長パターンが一致している場合に、白色光像撮像用光源40を発光させる。

【0023】細胞の静止像を撮像するためには、白色光像撮像用光源40の発光時間は十分に短い時間でなければ、細胞の静止像は得られない。この発光時間は細胞が撮像領域を通過する速度によって決定されるが、例えば、細胞の通過速度が1m/secの場合、発光時間は1μsec以下でなければならない。この時、同時に電子シャッター50を動作させ、イメージインテンシファイア30へストロボ光が入射しないようにする。白色光像撮像用光源40から発した光は、ハーフミラー46で反射され、フローセル16中の細胞に照射される。このこと

によって、細胞を透過した光が受光レンズ22で集光され、ハーフミラー48で反射されてCCDカメラ52に結像される。以上のようにして、特定の波長の蛍光を発する細胞の白色光像が取得される。

【0024】実施例5

図6の装置は、光源10による蛍光励起光の照射系と、光源40による粒子撮像用パルス光の照射系とを同じ光軸上に配置し、また、散乱光、蛍光、粒子透過光像の各検出系も同じ光軸上に配置して前方散乱光、前方蛍光及び透過光像を検出対象とするものであるが、他の例も各種実施可能である。例えば、図8は、実施例5における粒子分析装置の構成を示している。図8の装置は、図6の装置とは光源10による蛍光励起光の照射系の配置の点で異なり、光源10による側方散乱光、光源10による側方蛍光及び光源40による透過光像を検出対象とするのである。なお、側方散乱光を検出するため遮光板20は不要である。

【0025】また、図6の装置の構成において、光源10の光と光源40の光を共に可視光とする場合には、ミラー46としてハーフミラー、あるいは光源10からの光を反射するダイクロイックミラーを使用しなければならないので、各光源からの光を効率よくフローセル16に導くことができない。しかし、図8の装置の構成では、ミラー46を使用しないため、光源10からの光及び光源40からの光をそれぞれ効率よくフローセル16に照射することができるという利点がある。

【0026】実施例6

図9は、実施例6における粒子分析装置の構成を示している。図9の装置は、図6の装置とは光源40による粒子撮像用パルス光の照射系及び粒子透過光像の撮像系の配置の点で異なり、図9の装置は光源10による前方散乱光、光源10による前方蛍光、及び光源40による透過光像を検出対象とするものである。本実施例は、実施例4における粒子分析装置において、白色光像撮像用の系を蛍光検出用光学系と直交した位置に配置したものである。この構成では、図6におけるハーフミラー46、48を使用する必要がないため、光源10、40の光量を効率的に使用することができるという利点がある。15は集光レンズ、23は受光レンズ、60は信号処理装置である。

【0027】実施例7

図10は、実施例7における粒子分析装置の構成を示している。本実施例の基本構成は、実施例1と同じである。本実施例の特徴は①試料液流を丸型の流れではなく扁平な流れ64にした点、②蛍光スペクトル像を検出する受光素子を一次元イメージセンサではなく二次元イメージセンサ70とした点、③スリットを丸ではなく横に幅広い矩形のスリット68とした点である。図11は、図10の要部拡大図である。試料液流64は扁平流であるので粒子解析数を増すことが可能となる。また、二次

元イメージセンサ70を用いているのでX方向の各点に対するスペクトル分布図が得られる。なお、フローセル16において扁平な試料液流64を得るために、フローセル16の導入用流路を、流路の一方向の幅のみが次第に狭められた形状とする。

【0028】例えば、フローセル16内での測定領域 $20 \times 150 \mu\text{m}$ 、受光用レンズ22の結像倍率を $\times 40$ 倍とする場合、分光手段28の前のスリット68を $6 \times 0.8 \text{ mm}$ とし、受光素子(二次元イメージセンサ)70として1画素のサイズが $40 \mu\text{m}$ 、 150×250 素子(X方向150画素、Y方向250画素)のCCDエリアセンサを使用すれば、測定領域全体に対して細胞からの蛍光スペクトルが測定でき、波長分解能としてもCCD1画素当たり波長分解能1nmとすることができる。ここで、受光素子70から得られた信号を信号処理装置72で処理することによって、同時に多数の細胞から発せられている蛍光の蛍光波長が測定できる。また、細胞から発せられる蛍光の波長が特定の波長領域に限定されている場合、例えばFITC (fluorescein isothiocyanate)、フィコエリトリン (Phycocerythrin)、プロピジウムイオダイド (Propidium iodide) を蛍光染料として使用している場合、 $530 \text{ nm} \cdot 570 \text{ nm} \cdot 610 \text{ nm}$ の波長に対応するY軸位置にラインタイプのCCDセンサ又はフォトダイオードアレイを設置しておけば、対象とするスペクトル成分のみの測定も可能となる。62は集光レンズ、66は遮光板である。

【0029】実施例8

図12は、実施例8における粒子分析装置の構成を示している。本実施例は、図10に示す実施例7の装置に、白色光像撮像用の系を付加したものである。この構成例では、検出器(二次元イメージセンサ)70から得られた信号を信号処理装置74で解析し、あらかじめ設定された条件(例えば、FITC (fluorescein isothiocyanate) とフィコエリトリン (Phycocerythrin) で2重染色している場合、 530 nm と 570 nm の蛍光強度のどちらか一方がある一定の値以上の場合、もしくは両方がある一定の値以上の場合)と一致する細胞を発する細胞が通過した場合、白色光像撮像用光源40を発光させCCDカメラ52に細胞像を取得する。44は波長選択フィルターである。なお、試料液を扁平流とする実施例の場合も、光学系の配置を各種変更して実施することができる。

【0030】

【発明の効果】本発明は、上記のように構成されているので、つぎのような効果を奏する。

(1) プリズムや回折格子等の分光手段により粒子からの蛍光を波長ごとに分離し、さらにイメージインテンシファイアで増幅し、波長ごとにその強度をイメージセンサで測定しているため、個々の粒子に対して同時に複

数の蛍光強度を精度よく測定することができる。また、
蛍光スペクトル像を得ることができる。

(2) 光の分離は、波長選択フィルタではなく分光手段によっているので、波長が接近していても良好に分離できる。

(3) 試料液流を扁平流とし、イメージセンサとして二次元イメージセンサを用いる場合には、複数の粒子に対して同時にそれぞれの粒子の蛍光スペクトルを測定することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の粒子分析装置の一実施例を示す構成図である。

【図2】図1におけるダイクロイックミラーの特性図である。

【図3】図1における分光手段まわりの詳細を説明するための斜視説明図である。

【図4】本発明の装置の他の実施例を示す構成図である。

【図5】本発明の装置の他の実施例を示す構成図である。

【図6】本発明の装置の他の実施例を示す構成図である。

【図7】図6に示すフローセル部における励起用光源の照射領域とCCDカメラの撮像領域を示す説明図である。

【図8】本発明の装置の他の実施例を示す構成図である。

【図9】本発明の装置の他の実施例を示す構成図である。

る。

【図10】本発明の装置の他の実施例を示す構成図である。

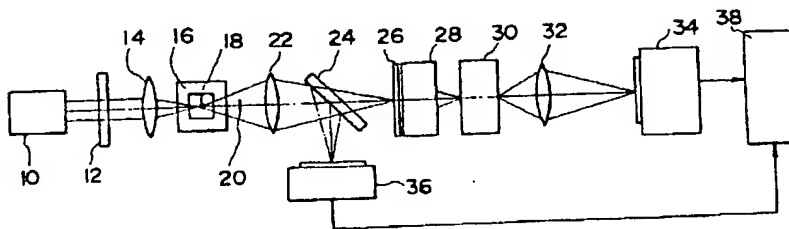
【図11】図10における分光手段まわりの詳細を説明するための斜視説明図である。

【図12】本発明の装置のさらに他の実施例を示す構成図である。

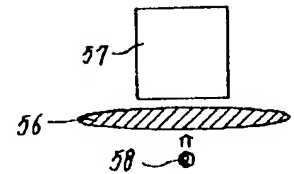
【符号の説明】

- | | |
|----|---------------------|
| 10 | 励起用光源 |
| 16 | フローセル |
| 18 | 試料液流 |
| 20 | 遮光板 |
| 26 | スリット |
| 28 | 分光手段 |
| 30 | 増幅手段（イメージインテンシファイア） |
| 34 | イメージセンサ |
| 36 | 光検出手段 |
| 38 | 信号処理装置 |
| 40 | 撮像用光源 |
| 52 | 撮像手段（ビデオカメラ） |
| 56 | 励起用光源の照射領域 |
| 57 | ビデオカメラの撮像領域 |
| 64 | 試料液扁平流 |
| 66 | 遮光板 |
| 68 | スリット |
| 70 | 二次元イメージセンサ |
| 72 | 信号処理装置 |
| 74 | 信号処理装置 |

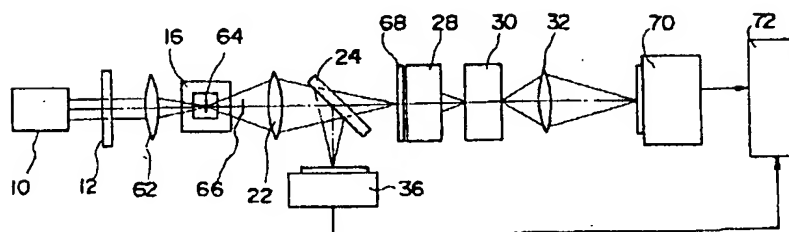
【図1】



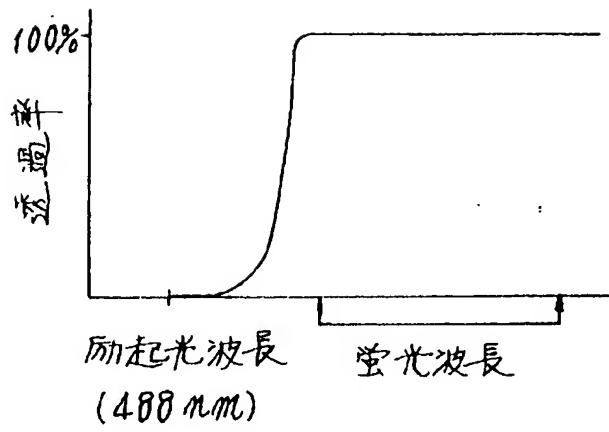
【図7】



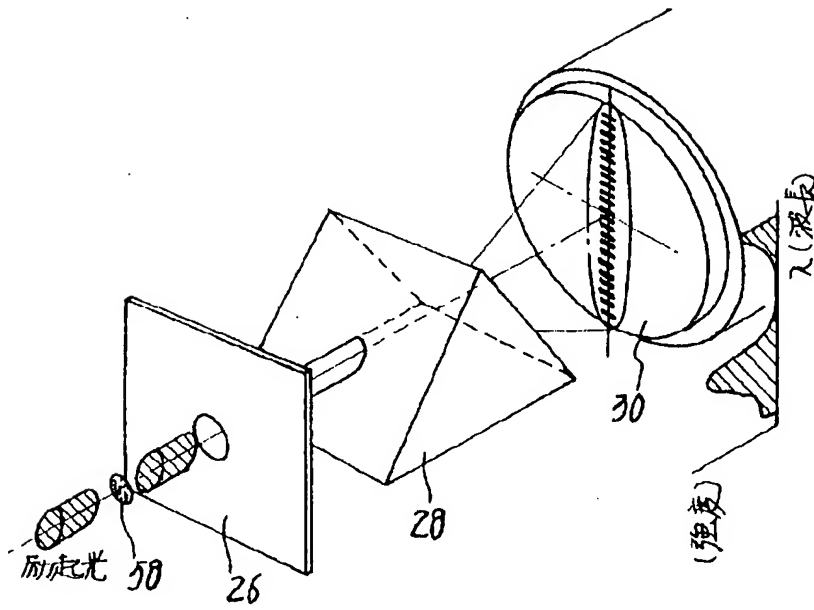
【図10】



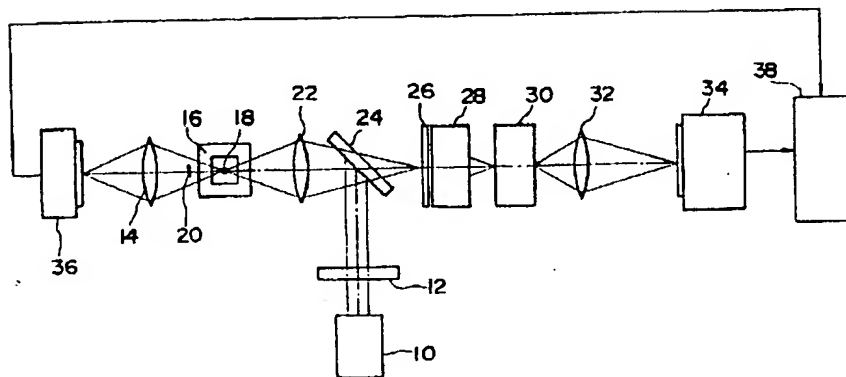
【圖 2】



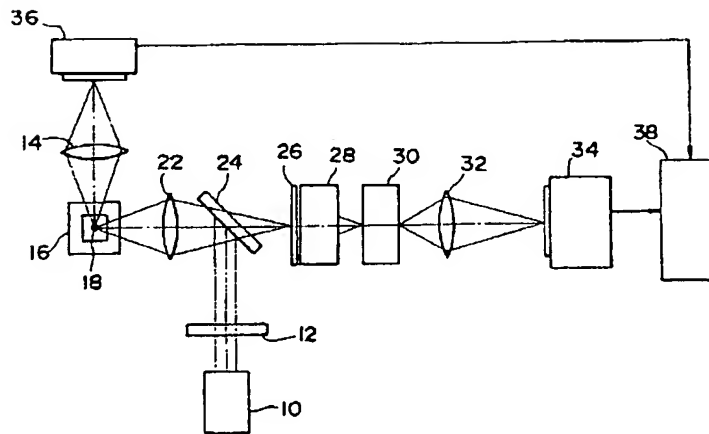
【圖 3】



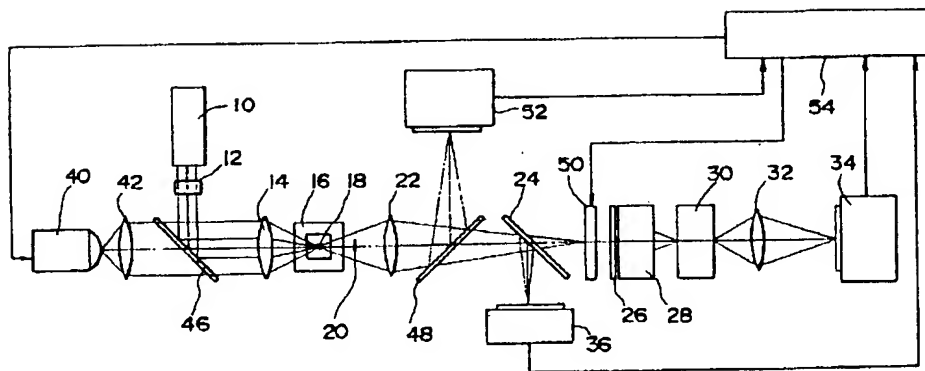
【圖 4】



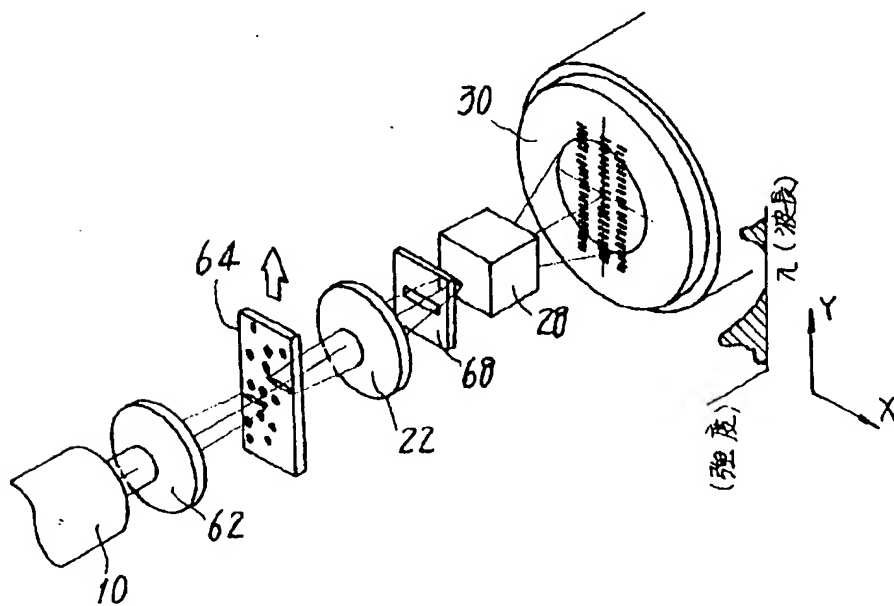
【図 5】



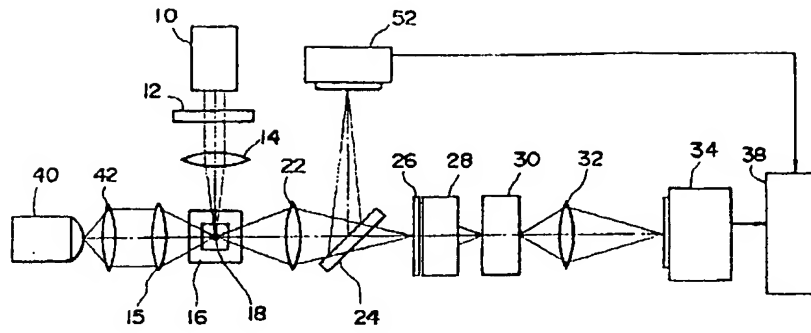
【図 6】



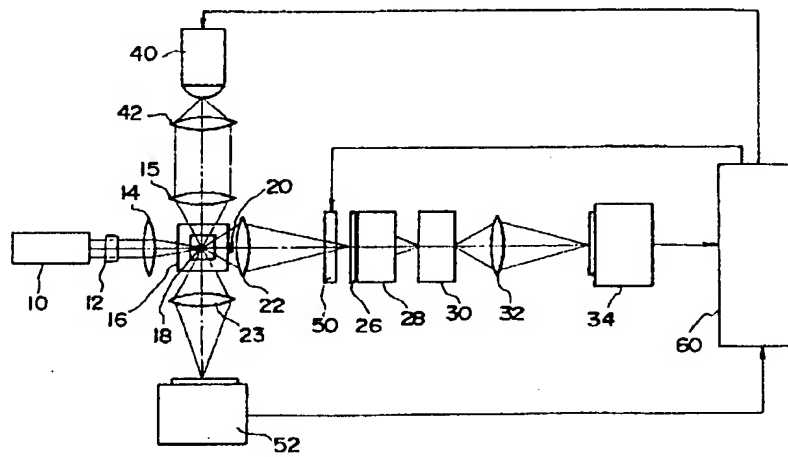
【図 11】



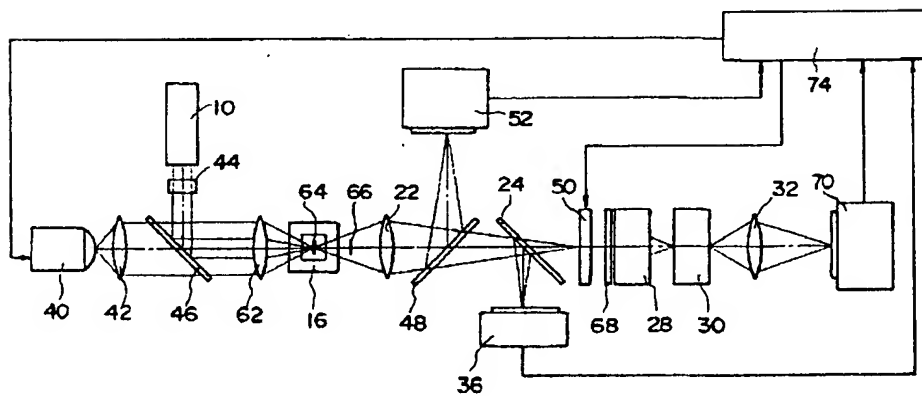
【図 8】



【図 9】



【図 12】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.